Vol. III Febbraio 1931 - A. IX Fasc. II

SOCIETÀ INTERNAZIONALE DI MICROBIOLOGIA

BOLLETTINO

DELLA

SEZIONE ITALIANA

SOMMAIRE

SOCIETÀ INTERNAZIONALE DI MICROBIOLOGIA

SEZIONE ITALIANA

Segue ELENCO DEGLI ADERENTI.

288. – BATTAGLIA prof. MARIO - Riviera di Chiaia 48, *Napoli*.
289. – FALCHI prof. GIORGIO - R. Clinica Dermosifilopatica, *Sassari*.
290. – LOMBARDO prof. COSIMO - R. Clinica Dermosifilopatica, *Pisa*.
291. – NICOLETTI dott. VALERIO - R. Clinica Dermosifilopatica, *Pisa*.
292. – PONZI dott. ETTORE - R. Clinica Ostetrica, *Parma*.
293. – PROCACCINI dott. LUIGI - Via Cimarosa al Vomero 69, *Napoli*.
294. – RANDONE dott. FRANCESCO - Via dei Mille 7, *Siracusa*.
295. – SISTI dott. MARCO AURELIO - Ospedale Vittorio Emanuele III, *Jesi* (Ancona).

AVVISO AI SOCI

S'invitano i Soci che non hanno ancora inviato il contributo sociale per il 1930 di farlo al più presto, avvertendo che in caso di mancato pagamento col mese di marzo sarà sospeso l'invio del Bollettino ed il socio sarà considerato dimissionario.

La quota sociale in Lit. 10 deve essere inviata al cassiere Prof. DOMENICO CARBONE, Via Darwin 20, Milano.

ARNAUDI CH. – **La présence dans le rumen des bovidés, de microrganismes dégradant la cellulose, du groupe " Cytophaga ".**

Au cours de recherches sur la flore microbienne des terres de la bruyère de Lombardie — en étudiant la dégradation aérobie de la cellulose — nous avons eu occasion de constater, exclusivement dans les terrains traités abondamment avec du fumier, la présence de formes microbiennes, appartenantes aux genres *Cytophaga* et *Cellvibrio*. Ce fait nous a suggéré de rechercher aussi, la présence de ces mêmes germes, dans le fumier mûr et nous avons pu réellement constater leur abondante présence dans tous les échantillons examinés (1).

Nous avons pensé alors, que les organismes en question, pussent se trouver éventuellement déjà dans la fiente des animaux doméstiques et, en effet, nous les avons retrouvés dans des épreuves exécutées sur de la fiente de cheval et de boeuf. Cette circonstance se demontrait d'un grand intérêt pour l'explication de la diffusion de ces microrganismes dans les terrains fertiles, mais elle avait aussi une importance à elle même, en vue du rôle qu'a la cellulose dans l'alimentation des herbivores. Nous avons cru qu'un examen plus profond de la question put être intéressant, au but de vérifier si ces microbes n'eussent pas éventuellement un rôle dans la digéstion de la cellulose.

On sait, en effet, que les herbivores, et plus particulièrement les ruminants, prennent avec leurs aliments, une grande quantité de cellulose, tandis que la quantité présente dans la fiente est bien plus petite; selon Haubner, les bovidés en digérissent le 60%. En plus, on n'a pas pu démontrer, dans les sucs digéstifs, la présence d'un ferment capable de décomposer cette substance, en manière d'en permettre l'assimilation. Jusqu'à présent, on a interprété la digestion de la cellulose, comme due à l'action biochimique des microrganismes, abondamment présents dans le rumen. A cet égard, on donnait une grande importance aux protozoaires, et particulièrement aux ciliés qui vivent, très nombreux, dans le rumen des bovidés adultes, comme dans le coecum et dans le côlon ascendant des chevaux, où en effet on croit qu'ait lieu, dans ces animaux, la digestion de la cellulose.

Les récentes recherches de Becker (2) et particulièrement celles très soigneuses de Usuelli (3), ont démontré que si les infusoires peuvent

---

(1) Ch. Arnaudi - M. Jarach, *Recherches sur la microflore de la bruyère de Lombardie* (Boll. Sez. It. d. soc. intern. di microbiologia, 1930, n. 9).

(2) Becker, Jowa State College Journal of sciences, 1930, T. IV.

(3) Usuelli, *Gli infusori ciliati che vivono nell'apparato digerente degli erbivori* (La Clinica Veterinaria, 1930).

avoir des activités utiles pour les animaux hôtes, pour ce qui regarde la cellulose, cette activité — si elle existe — ne peut avoir que très difficilement, une valeur quantitative notable pour l'herbivore.

Certains auteurs, pensent que dans le procès en question, aient grand importance les anaérobies sporigènes, déstructeurs de cellulose, dont la présence dans la fiente a été demontrée souvent. Sans vouloir nier cette possibilité on reste perplexes en vue de la grande lenteur avec laquelle ces microrganismes agissent, au moins en vitro, et de l'imposante activité dégradative de la cellulose qu'on vérifie au contraire dans la digéstion des bovidés. Parmi les anaérobies sporigènes, le *B. cellulosae dissolvens* pourrait être important; c'est un producteur d'acide butyrique qui se détâche par ses caractères des autres anaérobies d'Omeliansky et qui a été isolé par M.lle Khouvine en 1926 (1) des selles humaines. Ce microbe, qui possiède certainement une bonne activité sur la cellulose, a été retrouvé par M.lle Khouvine presque dans le 50% des échantillons de fiente de cheval, boeuf, lapin et cobaye et aussi dans plusieurs échantillons de terre.

Les microrganismes que nous avons pris en considération, sont caractérisés par une notable propriété dégradative de la cellulose, par une grande rapidité de développement et, surtout, par une extrême spécificité pour la cellulose.

Hutchison et Clayton (2) qu'ont isolé les premiers l'espèce *Spirochaeta Cytophaga*, qui caractérise tout ce groupe d'aérobies décomposant la cellulose, et surtout Winogradsky (3) qui a étudié très soigneusement ce même groupe — dont il a donné les bases (et au mémoire duquel nous renvoyons le lecteur pour les particularités descriptives) — ont demontré que la source unique de carbone assimilable par ces microrganismes, est la cellulose, qui vient rapidement à ètre oxidée et réduite à un étâ tcolloïdal facilement dispersible dans l'eau et soluble dans les alcali faibles.

En vue de leur importance, nous rappelerons ici brièvement quelques unes des propriétés de ces microrganismes que Winogradsky a classifiés en trois genres: *Cytophaga*, *Cellvibrio* et *Cellfalcicula*. Ils donnent, dans les cultures, des pigments à teintes variables selon l'espèce, du jaune clair, à l'orange, au brun, au rose et au vert. Ils ne sporifient pas et ne peuvent pas agir sans la présence d'azote directement assimilable. L'azote inorganique réussit particulièrement favorable; il vient organiqué par les microrganismes au taux de 2 p. 100 de la cellulose degradée. Les pro-

---

(1) F. Khouvine, *Le B. cellulosae dissolvens et la fermentation de la cellulose.* (C. R. de la Soc. de Biol., 1926, T. XCIV).

(2) Hutchinson et Clayton, *On the decomposition of cellulose.* (Jour of Agric. science, 1919).

(3) S. Winogradsky, *Sur la dégradation de la cellulose dans le sol.* (Ann. Pasteur, 1929, p. 43).

duits derivants de l'oxydation de la cellulose, donnent la réaction de l'oxycellulose mais ils n'ont directement aucune propriété réductive sur la liqueur de Fehling; ce caractère différencie cette oxydation de celle chimique. Tous ces microrganismes sont très sensibles à l'acidité et bien qu'aérobies ils réduissent les nitrats en sels ammoniacaux. En vue de ces particularités caractéristiques, il faut réaliser des conditions électives dans les plaques d'isolement, au but de permettre l'accroissement des colonies et d'en révéler la présence dans le matériel en étude. Ces conditions on été bien réalisées par Winogradsky, qui a adapté à propos à ce cas spécial, sa méthode classique des plaques au silico-gel. On prépare le silico-gel, suivant la méthode connue et on le couvre avec la quantité nécessaire de nitrate de potasse, enfin on l'impregne d'une solution nutritive formée par une solution aqueuse de phosphate monopotassique, sulfate de magnèse, chlorure de sodium, sulfate de fer, sulfate de manganèse à laquelle on ajoute du carbonate de chaux au but de conserver le milieu presque neutre. On détend, sur le silico, ainsi préparé, un rond de papier à filtrer, sterilisé à l'autoclave. Puisque le milieu manque de l'azote organique et du carbone, directement assimilables, il en suit qu'aucun des microrganismes habituells de l'air et de l'eau peuvent trouver dans le même des conditions possibles de vie et qu'il n'y aura pas besoin de stérilisation.

On repandra sur ces plaques le matériel en examen, bien déchiqueté et on les mettra à 30° C. Au bout de 3-4 jours — si le matériel en examen contenait des formes du groupe en question — on observera la formation d'une auréole colorée autour du grain de matériel.

Par transparence on peut noter presque toujours que la cellulose se fait translucide; selon l'espèce, l'auréole — qui est formée par la culture des germes — peut limiter son expansion ou bien on peut avoir aussi l'envahissement de toute la plaque.

* * *

Pour l'examen des matériaux prélevés du rumen des bovidés et des autres organes de l'appareil digéstif des herbivores, nous disposions, avec des minces aiguilles, sur la surface des plaques, à une distance opportune (presque 5 mm.), un fetu d'aliment, de manière que sur chaque plaque de 9 cm. de diamètre nous disposions presque ¼ de cmc. de matériel, puis on portait en étuve.

De temps en temps on examinait les plaques pour faire nos observations; à la fin nous les desséchions; ce qui nous permettait de juger tout de suite de l'intensité de l'action exercée sur le papier à filtrer; en effet, si quelques fois après le déssèchement le papier ne présentait que des

trous plus ou moins grands, d'autres fois — au contraire — toute la masse du papier était décomposée de manière qu'on n'en pouvait retrouver aucune partie.

Nous avons voulu déterminer avant tout la distribution de ces microbes dans l'appareil digestif du cheval et des bovidés. A tel but nous avons fait dans l'Abattoir de Milan (1) une série de prélèvements stériles sur des chevaux et des bovidés, au moment même de l'abatage. Dans le cheval, nous avons ainsi examiné le matériel prélevé dans l'estomac, dans trois points du grêle, dans les trois branches du côlon et dans le coecum. Nous dirons tout de suite, que dans les plaques ensemencés avec le matériel de l'estomac et celui des trois prélévements du grêle, nous n'avons pu observer aucun accroissement de microrganismes et cela aussi après une observation des plaques ensemencées prolongée pour 10 jours; ce fait nous démontre l'absence des germes spécifiques que nous recherchions et, en outre, nous assure de la grande électivité du milieu cultural.

Dans les portions du côlon, et particulièrement dans le côlon ascendant, nous avons observé, au contraire, une grande quantité d'organismes dégradant la cellulose: en effet, trois quarts des brins disposées sur les plaques en question, ont été entourés rapidement par la patine colorée. De nos observations, il résulte enfin, que la flore du coecum semble moins abondante que celle du côlon. Les chevaux examinés étaient tous sains et avaient eu une alimentation normale.

Nous avons examinés ensuite plusieurs échantillons de rumen du second, troisième et quatrième éstomac, du grêle et du coecum, provenants de bovidés des deux sexes, de races italiennes et jugoslaves et prélévés comme de coutûme tout de suite après l'abattement des animaux. Pour chaque prélèvement, nous avons apprété deux plaques. Après 9 jours on constatait les premiers signes de développement et après 5 jours on avait les résultats suivants:

Rumen: Autour de chaque fute de matériel ensemencé, se forme une petite colonie jaune orange. Ces colonies sont confluentes entre elles. On observe aussi deux colonies jaunes chamois et une jaune citrin clair.

II Estomac: Deux grandes colonies confluentes jaune chamois et une jaune orange: elles recouvrent un tierce de la plaque. Les autres brins de matériel restent macroscopiquement stériles.

III Estomac: Deux petites colonies rosées. Le reste, macroscopiquement stérile.

IV Estomac: Les plaques ne donnent aucun développement et restent apparemment stériles.

---

(1) Je remercie ici M. le Dr. Frescura de l'Abattoir de Milan pour l'amabilité avec laquelle il a mis a ma disposition les animaux abattus.

Coecum: Six brins seulement sont entourés de petites colonies jaune orange, très semblables à celles observées dans le rumen.

Toutes les plaques sont remises à 30° C. et on les observe encore après 12 jours. Les colonies observées au 5ème jour sont plus étendues et grandes; les plaques de rumen du III estomac sont recouvertes par les colonies qui sont confluentes entre elles. Les autres ont encore le même aspect qu'on avait observé dans l'examen précédent.

En vue de ces résultats, nous avons étendu nos observations à d'autres animaux, mais nous nous sommes limités aux prélèvements du rumen. Nous avons examiné plusieurs fois le contenu du rumen de 37 bovidés adultes et de 16 veaux. Les résultats obtenus pour le rumen des grands animaux ont confirmé tous, les résultats que nous avons eu pour le premier rumen étudié. Tous les brins de résidus alimentaires ont donné lieu en 4-6 jours, à la formation de colonies pigmentées, soit en jaune orange, soit en jaune chamois ou brun. Après ce lapse de temps on les a desséchées; en enlevant le rond de papier, on a vu qu'il était tout troué en correspondance de chaque colonie.

Dans les veaux, au contraire, les résultats ont été un peu différents. Dix plaques preparées avec le matériel de 10 prélèvements différents, ont été peu différentes de celles des bovidés adultes mais, avec une seule exception, elles étaient moins abondantes en microrganismes et les futes ensemencées ne se sont pas revelées toutes fertiles; 1 présente une seule colonie jaune 5 sont stériles à l'examen macroscopique, aussi après 12 jours de permanence en étuve. Ce résultat pouvait être prévu en se rappellant la nature de l'alimentation des veaux. Nous avons executé des essais d'orientation sur de la paille et sur du foin et nous avons révelé sur ces matériaux la présence des microrganismes dégradant la cellulose du groupe considéré; on peut donc penser qu'ils viennent introduits dans le rumen au moyen des aliments.

L'alimentation laiteuse des veaux, peut exclure cette voie d'introduction et d'autre part la sensibilité de ces microrganismes à l'acidité crée un obstacle à leur multiplication, dans le milieu acide nécessaire à la digestion du lait; cela est conforme à ce que Usuelli a observé pour les protozoaires qui ont une sensibilité analogue aux milieux acides.

Bien que la grande électivité du milieu cultural fût suffisante pour garantir la nature des microrganismes qui s'y développent, pour être sûrs que parmi les colonies développées n'existaient pas des chromogènes communs, développés eventuellement aux dépenses des matériaux nutritifs accompagnant les brins alimentaires, en plus des examens microscopiques faits pour le diagnostic des microbes, nous avons repiqué sur tube de gélose commune et de gélose maltosé inclinés, les colonies obtenues autour des futes provenantes du rumen des bovidés adultes. Beaucoup

de ces tubes, examinés après 48 heures, étaient stériles; sur 20 d'eux on observait le développement de microrganismes divers à patine blanche ou jaunâtre; quelques unes développaient de l'ammoniaque; en général ils étaient tous rapportables au groupe du *B. mésentericus*, du *B. subtilis* et du *B. coli*. Nous n'avons noté aucun microbe chromogène soit sur les tubes de gélose, soit sur ceux de gélose maltosée, sur ces derniers, nous avons observé quelques moisissures non sporifiées. Pour ce qui regarde les espèces degradant la cellulose, nous avons sûrement déterminé la *Cytophaga Hutchinsonii*: elle était présente dans plusieurs plaques de rumen avec de autres espèces rapportables à ce genre, mais celles appartenantes au genre *Cellvibrio* seraient plus fréquentes. Bien que nous nous occupions encore de l'étude systématique des microbes isolés et d'autres problèmes de la biologie de ces importants microrganismes, nous avons cru utile de communiquer pour le moment les résultats obtenus jusqu'ici sur leur diffusion dans l'appareil digestif des bovidés et celà pour le contribut que nos études peuvent apporter aux connaissances sur la flore microbienne de cet appareil et sur la digestion de la cellulose.

Laboratoire de Microbiologie Agricole de l'Institut Sérothérapique de Milan.

CANELLI ADOLFO F. – **Sur la réaction de Wassermann dans l'aortite syphilitique.**

Pour le diagnostic précoce de l'aortite syphilitique on posséde aujourd'hui deux moyens très importants: ce sont la radiologie et la réaction de Wassermann. Cette dernière a sans doute une importance bien plus considérable que la précédente.

En nous servant systématiquement de ces deux moyens nous sommes aujourd'hui à même de rendre évidentes l'existance et la nature d'un grand nombre d'ectasies aortiques qui frappent des individus encore relativement jeunes, pour lesquels l'examen physique à lui seul ne peut ni découvrir ni évaluer la lésion vasculaire qui s'est dejà formée.

Mais l'examen clinique complet (c'est à dire les examens physiques, radiologiques et sérologiques) aidé de toutes les connaissances anatomiques, étiologiques et statistiques que nous possédons sur le rapport qui existe très souvent entre syphilis et ectasie aortique, nous permet de déceler l'existance, la nature et le stade de développement de la lésion vasculaire.

La radiologie et la réaction de Wassermann ne sont pas seulement des moyens très sûrs permettant d'arriver au diagnostic, mais, en certains cas, ils permettent d'établir aussi un pronostic.

L'aortite, parmi toutes les manifestations tardives de la syphilis, est celle où la positivité de la réaction de Wassermann est la plus fréquente et la plus intense: les recherches d'un grand nombre d'auteurs concordent sur ce point.

Je suis du même avis, bien que mon opinion concorde ave celle que *Citron* a enoncé il y a vingt ans; cet A. fit observer que la réaction de Wassermann est le plus souvent positive dans les cas d'aortite avec pression basse et ne présentant pas en même temps, une hypertrophie du coeur, tandis qu'ell l'est beaucoup moins dans les cas pour lesquels la pression est forte et où on observe une myocardite et une hypertrophie du coeur.

Il me semble, toutefois, être le cas de rappeler ici une observation qu'il m'á été donné de faire.

Pour plusieurs cas que j'ai observé, j'ai pu remarquer que la réaction de Wassermann était, pour le même individu, tantôt positive et tantôt négative a la distance de deux, de quatre, ou de huit jours: il était question d'individus sûrement syphilitiques, qui n'avaient jamais été soignés, ou qui l'avaient été très sommairement, qui n'étaient point arteriosclérotiques et qui avaient été traités avec la réactivation. Dans ces cas la positivité de la réaction de Wassermann n'était jamais très marquée.

Je me suis donc proposé de rechercher la cause de ce fait.

Je prélevais toujours le sang à jeun, par aspiration, directement d'une des veines du coude: je le laissais, pendant quelques heures, à une température de 17°-18°, et ensuite je le mettais dans un thermostate jusqu'à en obtenir le sérum: les antigènes étaient nombreux, et en quantité égale pour chaque sérum.

Or il est arrivé, assez souvent, que lorsque je faisais la réaction sur le sérum de sang prélevé le jour même ou bien le jour avant, la réaction de Wassermann était également négative avec tous les antigènes: mais quand je répétais la même réaction, les conditions étant toujours les mêmes, avec du serum de sang prélevé deux ou trois jours auparavant, elle était au contraire faiblement positive.

J'insiste sur le fait, que la réaction de W. était faiblement positive, car il y a de fortes différences lorsque la positivité est très marquée, soit dans l'une ou dans l'autre condition de prélèvement.

Pour me donner une raison de ce phénomène, la seule explication qui me semble bonne est fournie par le facteur chronologique du prélèvement du sang: ce comportement, en effêt, bien qu'il ne constitue point la règle, est une exception q'il ne faut pas laisser de côté.

Il faut aussi se rappeler que, pour les cas exceptionnels que j'ai décrit, la thérapie antisyphilitique spécifique a donné de très bons ré-

sultats: ce fait démontre que la thérapie a fourni une preuve diagnostique de la réaction de Wassermann.

Je pense que les sujets adultes, mais encore assez jeunes, avec ou sans lésions aortiques, même légères, démontrables par l'examen physique, et qui présentent une ectasie aortique peu marqueé mais que l'épreuve radiologique peut rendre évidente, doivent être examinés avec une grande patience aussi au point de vue sérologique, pour pouvoir découvrir ces formes de syphilis vasale sérologiquement peu marquées et très peu apparentes.

La raison pour laquelle la réaction de Wassermann se comporte de cette façon sur des individus qui sont sûrement syphilitiques et qui n'ont jamais été soignés ou qui l'ont été insuffisamment, ne pourrait être donnée qu'en énonçant des hypothèses plutôt vagues dont il n'est pas le cas de parler ici.

Pour les cas que je viens de décrire on pourrait discuter sur le degré de l'infection syphilitique mais non sur le stade de l'infection qui est dejà arrivée à attaquer les parois des artères.

L'importance pratique de ces remarques — et c'est ici la raison pour laquelle j'ai rédigé cette note — est de faire observer que la réaction de Wassermann doit être faite à temps, et surtout jamais sur le sérum de sang à peine prélevé de l'individu.

Il est connu que les résultat de la réaction de Wassermann peut être compromis si le sérum est trop vieux: il ne faut donc pas exagérer, et arriver ainsi à l'extrème opposé.

Les différences apparentes qui existent entre plusieurs réactions de Wassermann faites sur le sérum d'un individu à la distance de quelques jours, peuvent être expliquées en tenant compte des dates des différentes réactions.

Nous pouvons, vraisemblablement penser à un état physique et chimique particulier du sang, (peut-être colloïdal?) qui se forme et qui se modifie, selon des circostances que nous ignorons, lorsque le sang est hors de la circulation et qui sont en relation avec la date du prélèvement.

Cet état physique et chimique particulier aurait une action sur le mécanisme assez complexe de la réaction de Wassermann, action qui pourrait arriver jusqu'à avoir une influence sur la déviation du complément.

Dans les cas que j'ai rappelés il est toujours question d'un degré de positivité moindre de la réaction de Wassermann; ce fait m'autorise à penser, comme je l'ai dit plus haut, à une différence probable du degré de l'infection syphilitique; si l'hypothèse de la formation ou de la modification d'un état physique et chimique spécial du sang est vraie, on peut admettre que dans les cas semblables à ceux que j'ai cités il ne devient évident et sensibilisant qu' en retard et d'une façon très peu marquée.

JARACH M. – **Streptothrix rubescens, n. sp.**

Au cours de quelques recherches sur l'action des microbes dans le sol vegetal, nous pûmes observer une nouvelle espèce de streptothrichée, que nous avons nommée « Streptothrix rubescens », pourvue d'une pigmentation rouge trés accentuée.

Étant partis d'une forme caracterisée par des longs filaments entrelacés et qui portaient des spores aériennes sur un milieu de phosphate e de gypse, nous sommes parvenus à obtenir une modification durable de ces caractères, à la suite de nombreux passages dans le gelose ajouté de lait. C'est pourtant de cette manière qu'on a pu reproduire ce germe en état de pureté dans les passages successifs en milieu organique. On l'a observé ensuite dans une longue série de milieux culturaux, ne rencontrant jamais la forme originelle du premier terrain de croissance. À l'examen microscopique on a vu les filaments se fragmenter d'abord pour donner lieu à des bâtonnets, beaucoup plus gros dans le diamètre transversal que ce n'était auparavant. Ces formes bacillaires sont depourvues de spores; capables de se bifurquer en Y, avec un plasme plus ou moins colorable, mais presque toujours vacuolisé (μ 3,4÷5,1 × μ 0,5÷0,7 a μ 6,8÷8,5 × μ 0,8÷1,2). C'est un germe aérobie, gram-negatif, acido-resistant. On rapporte ici les caractères principaux des cultures:

Gélose alcaline striée: Croissance régulière sur la ligne de semence. Patine à pigmentation rose corail, de luisance graisse, à bords continus, sans sinuosités. A partir de 15 jours du semencement la coloration se fait plus claire et la surface patineuse se transforme de graisse en opalescente. Consistance moue, butyreuse.

Gélose glycérinée striée: Idem comme ci-haut.

Moût-gélose striée: Une patine s'est développée sur la ligne de semence et d'une façon symétrique aux bords, avec une vive pigmentation rouge fraise. A partir de 15 jour la surface se fait granuleuse, à rebords déchiquetés, de luisance graisse. Consistance moue.

Gélose glucosée striée: Patine rose dans la première semaine, ensuite rouge sang.

Elle est constituée d'un grand nombre de petites colonies rondes, confluantes, relevées au centre. Après un mois la patine a l'épaisseur d'environ un millimètre, avec rebords déchiquetés, à luisance graisse, surface plaine cireuse au milieu. Elle se répand considérablement sur le fond de l'éprouvette, jusqu'à toucher son bord. En général elle a les

contours bien nets, délimités à l'extérieur par une légère opalescence blanchâtre. La consistance de la patine est butyreuse.

Gélose glucosée infixion: La patine se développe en surface dans des cercles concentriques, à rebords ondulés à luisance graisse. Pénétration trés réduite dans le milieu (1 cm.).

Gélose lait striée: Patine cireuse, peu répandue en dehors de la ligne de semence, à pigmentation rose corail, bien délimitée, avec des bords continus.

Gélose lait infixion: A forme de tête d'épingle. Un grand nombre de petites colonies rouges éparpillées à la surface.

Gélose Czapek striée: Croissance médiocre sur la ligne de semence. Patine à pigmentation rouge saumon, à luisance graisse avec des bords continus.

Gélose Czapek infixion: À forme de tête d'épingle, avec disque superficiel pigmenté.

Gélose Crainski striée: Patine à pigmentation de couleur fraise claire, légèrement retroussée aux bords; surface ondulée luisante, contours plus ou moins délabrés.

Gélose Crainski infixion: Disque superficiel formé d'une patine rose concentrique au point de l'infixion. Une petite barbe décolorée de 3 cm. environ.

Haricots-gélose striée: Sur la ligne de semence se produit une riche patine lucide à pigmentation très prononcée. A l'extérieur des projections de colonies rondes de la couleur du corail.

Gélatine commune et moût-gélatine: Il n'y a pas de fluidification; petite barbe dépigmentée, environ 1 cm.

Gélatine au liquide de Conn: A forme de tête d'épingle, pigmentée en surface, petite barbe mince de la longueur de 4 cm.; sans pigmentation dans le canal d'infixion; pas de fluidification.

Bouillons (commun, moût de bière, glycériné, Czapek et Crainski): Des floculations minuscules effiloquées. A partir de 15 jours les bouillons deviennent légèrement troubles. Dépôt rouge à l'âge d'un mois.

Lait: Pas caillé, pas digéré, dépôt rouge au fond.

Pommes de terre à la Roux: Patine rouge, pas très répandue, d'une couleur foncée, surface opalescente, rebords continus.

Plaques de moût-gélose disséminées: Des minuscules colonies rouges de la grandeur d'un cinquièm de millimètres, rondes, à contours clairs,

dans quelques unes presque blancs. La pigmentation est plus accentuée vers le centre de la colonie dont la surface est luisante.

A l'examen microscopique, à petit grossissement, on observe le contour des colonies qui est continu et légèrement ondulé. La surface des colonies est fortement convexe. La structure de la surface paraît d'une granulation très fine. Les colonies crûes dans la profondeur du milieu de culture, se présentent d'un aspect lenticulaire, très réduit.

Plaques de gélose glucosée disséminées: Croissance insignifiante.

Section de Microbiologie Agricole de
l'Institut Sérothérapique de Milan.

CARBONE D. et FORTUNA E. – **Nouvelles expériences sur la vaccination des vers à soie.**

Etant donné le résultat satisfaisant que nous avons obtenu de nos expériences pratiquées en 1928, nous les avons poursuivies en 1929 et en 1930, sur une plus vaste échelle en essayant aussi des modalités nouvelles de préparation et d'administration des vaccins. Nous avons fait en total cinq élevages expérimentaux, employant des vers à soie exactement calculés qui comprenaient dans l'ensemble 32.239 larves; en plus, nous avons institué personnellement un essai en grand, moyennant plusieurs modalités, sur cinq onces environ de semence, dans la possession de Carditello (en province de Naples) qui appartient à l'Association Nationale des Combattants. Enfin nous avons donné à des éleveurs particuliers de notre confiance, quelques parties de vers à soie qui avaient été vaccinés moyennant les vaccins — un jusqu'à trois — qui avaient reussi le mieux; ces parties ont été accompagnées toujours d'une partie de contrôle, jumelle mais non vaccinée, et elles ont varié à partir d'un *minimum* de 350-500 vers à soie pour chaque vaccin et 700 environ pour le *contrôle*, jusqu'à un *maximum* de 1-2-6 onces de semence pour chaque vaccin et 11 onces pour le *contrôle*.

Les vaccins ont été toujours administrés par la voie orale. On les délayait dans de l'eau ordinaire et on plongeait la feuille dans cette solution, aprés quoi on la laissait essuyer à l'ombre avant de la donner aux vers. Au cours des expériences de Carditello on a essayé trois modalités d'administration, à savoir: en un seul repas, lors de la première mue; en quatre repas, à la première mue et précisément dans le premier repas, après l'éclosion et dans les autres trois tous les deux jours; et à cette dernière modalité nous avons ajouté une administration de vaccin pour chaque mue ultérieure, c'est-à-dire avant chaque période.

Nous avons constaté que ce dernier système n'est point pratique, à cause de la grande masse de feuillage à traiter, laquelle, non seulement exige de doses considérables de vaccin, mais présente aussi de sérieuses difficultés pour son essuyage. C'est à cause de cela et du nul avantage apporté, que nous avons immédiatement abbandoné ce système, et les expériences successives que l'on a fait en 1929 ont compris, pour chaque vaccin, seulement les autres deux moyens d'administration. Mais de ces épreuves il ressort que les quatre repas administrés lors de la première mue ont donné, en général, des résultats meilleurs que ceux qui ont suivi au repas unique. En vue de cela nous avons définitivement adopté ce système pour toutes les expériences du 1930 et nous allons nous en servir toujours. Une seule épreuve a été pratiquée sur des vers sains, avec quatre petits lots de vingt vers à soie chacun, prélevés du lot de contrôle et vaccinés avec un seul repas lors de la cinquième période.

Dans le bout de provoquer l'infection, les vers ont été soumis, surtout pendant les dernières périodes, à des maltraitements opportuns (privation de repas, feuille trempée, etc.) qui ont été égaux pour tous les lots employés dans chaque expérience, et souvent nous avons été aidés par l'intervention de quelques orages précédés par plusieurs heures d'étouffement. C'est seulement pour les petits lots dont nous avons parlé tout à l'heure, qu'on a eut recours à l'administration de feuilles trempées dans le suc de pression des vers à soie atteints de maladies correspondant aux vaccins á l'épreuve; et cette infection a été déterminée sept jours après la vaccination.

Les lots de contrôle qui ont accompagné chaque expérience, ont été composés toujours avec un nombre relativement élevé de vers à soie, partagés sur de différentes claies que l'on mettait en des places diverses de l'élevage, de façon a exclure toute cause d'erreur provenant des différences éventuelles de température, d'aérage, etc. dues aux différents points du local. D'ailleurs, la répartition des vers sur plusieurs claies distanciées en des places différentes de la chambre a été faite souvent pour les lots vaccinés aussi; et, même à l'occasion de la grande expérience du Carditello pour laquelle on occupait neuf chambres faisant partie d'une tour de cette ancienne villa royale, on avait mis des claies de chaque lot dans chaque chambre.

Exception faite pour certaines préparations qui ont résulté nuisibles (et qui, naturellement, ont été rejetées tout de suite) les vaccins se sont démontrés plus ou moins actifs, suivant la méthode de préparation et, en partie, d'administration aussi, ainsi que nous venons de le dire.

Mais pour ce qui en est à la *grasserie*, nous n'avons pas grande chose à ajouter à nos conclusions précédentes, car même le lot de contrôle n'a

été presque jamais atteint par cette maladie. Au contraire. quand cela est arrivé (et ce fut surtout au Carditello), on a dû constater une action favorable de la part de la vaccination anti-grasserie pure; pourtant, cette vaccination ne sert aucunement à protéger contre la flacherie; on dirait plûtot qu'elle la favorise.

La vaccination pure contre la flacherie a été très largement expérimentée; et, tandis que la maladie a décimé et, parfois, tout à fait détruit les lots de contrôle, elle n'a atteint les lots vaccinés que bien plus tard et, parmi ces derniers, on a pu constater pour quelques types de vaccins, une mortalitè de beaucoup moindre et qui garda ce niveau, même dans les épreuves surmentionnées pratiquées par les éleveurs particuliers.

Au contraire la vaccination *mixte* a protégé les vers à soie contre les deux maladies dans une mesure considérablement inférieure en comparaison des vaccinations pures, en se démontrant par là, pas du tout convenante au point de vue pratique. Les lots vaccinés — surtout ceux auxquels on avait inoculé les vaccins les meilleurs parmi les vaccins purs — ont réussi toujours plus uniformes et avec des larves plus belles que les contrôles.

Maintenant nous avons l'intention de faire une expérience plus vaste, chez des particuliers, moyennant les vaccins qui ont donné les résultats les plus satisfaisants.

Section de Microbiologie Agricole de l'Institut Sérothérapique de Milan.

CASTELLI TOMMASO – **Sur le comportement des blastomycètes à la methode de Gram.**

En examinant le matériel obtenu de la désagrégation des grains de Kéfir caucasien dans de l'eau stérile, et en en faisant l'essai avec la méthode de Gram, j'ai pu observer que les lacto-bacilles se présentent constamment positifs tandis que les blastomycètes se colorent en partie positivement et en partie négativement. J'ai donc isolé le blastomycète qui, à cause de ses caractères morphologiques et culturaux, me semble devoir être considéré comme appartenant au genre « *Toralu* » et precisément à la « *Torula Lactis J* » (*Dombrowski*). Les cultures récentes et celles plus agées de quelques jours de ce blastomycète, traitées selon la méthode de Gram, ont toujours présenté la double coloration. Pour me rendre compte de la pureté de ces cultures j'ai preparé une culture unicellulaire; les résultats ont été, en effet, confirmés, car j'ai toujours observé un certain nombre de cellules présentant une couleur rouge, tandis que les autres étaient violettes.

Ensuite j'ai répété ces essais sur les differents blastomycètes de la collection du Laboratoire de microbiologie: il faut considérer ces cultures comme étant parfaitement pures.

Je résume ci-dessous les résultats des recherches que j'ai faites jusqu'à ce jour, sans énoncer aucune hypothèse apte à les interpréter.

1° *Torula Lactis* (d'áprés les grains de Kéfir). — Toutes les préparations faites d'après des cultures très récentes, récentes et agées, présentent toujours les deux colorations: le rapport entre les cellules positives et celles négatives peut être considéré de 1 : 1. On observe assez souvent des gemmes ayant une couleur rouge ou violette, unies à d'autres présentant la couleur opposée. D'après des cultures sur plaques de gélatine au moût de raisin, de 48 heures, tenues à la température de 18°, j'ai préparé des essais par impression dans lesquels il m'a été possible d'obtenir des colonies encore assez intégres. En les colorant selon la méthode de Gram on peut observer que leur partie centrale est d'une nuance rouge tandis qu'à la périphérie la grande majorité des cellules est coloriée positivement.

Ensuite j'ai voulu me rendre compte si le phénomène qui a lieu avec le Bacille du charbon, avec les Streptotrychées, avec le Bacille de la diphthérie (Zironi), avec le Bacille de Koch (Krilow), avec le « Bacillus Mesentericus » et avec celui « Subtilis » (Solarino), qui se comportent d'une façon différente moyennant l'épreuve de Gram selon l'âge de la culture, se manifeste aussi pour ma *Torula*.

Sur des verres stérilisés j'ai fait solidifier une petite quantité de gélatine au moût de raisin et sur ce dernier j'ai posé, en me servant de l'aiguille de platine, une trace de la culture liquide: j'ai ensuite conservé ces préparations, bien soigneusement protégées contre tout souillement, dans un thermostate à 18°.

Les unes après les autres, je les ai traitées selon la méthode de Gram à de brefs intervalles: il m'a été ainsi possible de confirmer que le centre de la colonie devient rouge tandis qu'à la périphérie on n'observe que des cellules colorieés en violet.

2° *Sacch. Ellipsoideus* (isolé dans ce Laboratoire en 1912). — Culture sur moût de raisin, tenue à 18° pendant quatre jours. Généralement on observe des formes coloriées en violet; d'autres ont une couleur intermédiaire, tandis que d'autres encore présentent décisément une couleur rouge.

3° *Sacch. Ellipsoideus* (isolé dans ce Laboratoire en 1929). — Culture sur moût de raisin, tenue à 18° pendant trois jours. Formes en général positives: d'autres, plus rares, ayant une couleur rouge.

4° *Sacch. Ellipsoideus* (Levain alcoolique, acclimaté au fluorure, fourni par M. le prof. Mezzadroli). — Culture sur moût de raisin, main-

tenue pendant quatre jours à 18°. Les formes positives constituent les deux tiers de la quantité totale.

5° *Sacch. Ellipsoideus* (isolé dans ce Laboratoire en 1928). — Culture sur moût de raisin, maintenue pendant quatre jours à 18°. Les formes positives sont en grande majorité mais on peut toutefois observer aussi des cellules décidément colorées en rouge.

6° *Sacch. Pastorianus* (culture sur moût de raisin, tenue à 18° pendant quatre jours.) — Les formes colorées en rouge et celle présentant la couleur violette sont présentes à peu près dans le même rapport.

7° *Torula* (isolée d'une gazeuse filante). — Culture sur moût de raisin maintenue à 18° pendant trois jours. La préparation permet d'observer des formes granulées des deux couleurs, et des formes filamenteuses rouges.

8° *Blastomycète* de M. le prof. Carbone (rouissage des fibres textiles). — Culture sur moût de raisin maintenue à 18° pendant trois jours.

On observe les deux colorations: la forme rouge, toutefois, est en quantité prépondérante.

9° *Torula* (isolée du fromage). — Culture sur moût de raisin tenue à 18° pendant cinq jours. Les deux formes sont dans le même rapport.

10° *Sacch. Apiculatus* (isolé du moût de raisin in 1930). — Préparations faites d'après des cultures liquides tenues à 18° pendant trois jours et d'après des colonies sur gelatine au moût de raisin, laissées pendant 48-60 heures au thermostate a 18°: rapport égal entre les deux colorations.

11° *Mycoderma Acidificans*. — Culture sur moût de raisin maintenue à 18° pendant cinq jours. Formes colorées en rouge et en violet: quantité prévalente des formes rouges.

12° « *Torula rosea* » (isolée du lait). — Culture sur moût de raisin, tenue pendant quatre jours à 18°. Les trois quarts de la masse sont formés par des cellules rouges: le reste est positif.

13° *Blastomycète du yogourth*. — Culture sur moût de raisin maintenue à 18° pendant quatre jours. Formes presqu'exclusivement positives; il y a, rarement, des cellules rouges.

Il a été ainsi démontré, sans doute possible, que les blastomycètes présentent la même caractéristique que certaine schizomycètes, c'est à dire qu'ils se colorent, à la methode de Gram, soit d'une façon positive soit d'une façon négative. Je continuerai ces recherches pour découvrir la cause de ce fait, cause qui nous est encore inconnue.

Laboratoire de microbiologie agricole de l'Institut Royal Agricole Sup. de Perugia.

BATTAGLIA M. – **Le bacille de la tuberculose humaine et bovine sélectionné pour la vaccinothérapie.**

La recherche et l'étude de la tubercolose humaine et bovine a tracé une route longue et continuelle, parsemée de pierre milliaires qui honorent la clinique et l'anatomie-pathologique, l'histologie et la bactériologie; mais, tout en laissant de côté les connaissances exclusivement cliniques qui nous prouvent avec combien de diligence nos anciens posaient un diagnostic, celle qui reluit le plus c'est l'époque expérimentale. Depuis Laênnec (1820-1826), qui de sa vie confirma son assertion — laquelle, dès le 1670 constituait à Naples une intuition et un héritage publique — nous avons les merveilleuses recherches expérimentales qui, à partir de celles de Klencke (1843), de Villemin (1865), d'Armanni (1872), de Cohnheim (1874) vont jusqu'à celles de R. Koch (1882), qui a découvert le virus tuberculeux et en a obtenu la culture. Ensuite nous avons l'École de Naples avec Schrön, Petrone et Maffucci et puis celle de Pasteur, jusqu'à l'ultra virus tuberculeux de M. Calmette (virus filtrant).

Au cours de recherches culturales et d'observations microscopiques on a constaté dans le bacille tuberculeux Kochî, des phases morphologiques qui diffèrent beaucoup de celles des autres schizomycètes pathogènes et non pathogènes. Ce fut M. Petrone qui, en 1884, remarqua, le premier, une véritable dychotomie dans le bacille tuberculeux Kochî; et, ensuite, Metchnikoff (1888) put observer des phases morphologique telles à lui faire déclarer le bacille tuberculeux Kochî comme une vraie Sclerotrix; d'autre AA. l'ont considéré comme une véritable Streptotrix; d'autres encore l'estiment une Cladotrix; et enfin MM. Lehmann et Neumann l'ont classé parmi les corynebactères et les mycobactères, tandis que M. Schultze et M. Lubarsch, d'après leurs nombreuses recherches, ont remarqué une affinité morphologique considérable entre le bacille tuberculeux Kochî et l'actinomyces. M. Coppen Jonnes a décrit, dans les cultures du bac. tuberculeux Kochî, des corps ressemblables à ceux que l'on trouve dans les cultures de clamydospores des mucorinées et des massues semblables à celles de l'actinomyces; il a décrit aussi ces formations morphologiques, même dans les crachats des phtisiques.

En somme, tout cela restant dans un champ tout à fait objectif, il est évident qu'en effet le bacille tuberculeux Kochî est très différent — dans son évolution culturale — des schizomycétes pathogènes et non pathogènes.

En même temps, avec le progrès merveilleux de la bacteriologie, que l'on peut bien considérer comme une science s'étant de plus en plus

développée pendant la deuxième moitié du siècle, l'attention et l'étude des rechercheurs furent attirées sur le traitement des maladies infectieuses en considération du critérium pratique de Jenner par rapport à la vaccination. Mais, à vrai dire, l'hypothèse enivra, et souvent offusqua, la raison, tandis que Pasteur revena sur la conception de Jenner, conception qui, dès le debut du dernier siècle fut cultivée en Italie par plusieurs AA. Ces derniers ont laissé des ouvrages dont la lecture nous offre — même aujourd'hui — des critériums biologiques tout à fait modernes, ainsi que l'on peut en trouver dans le livre de Sacco, pour n'en citer qu'un, et précisément dans le « *Trattato di Vaccinazione con osservazioni sul Giardo e Vaiuolo Pecorino* » (Milano, 1809).

Jusqu'à présent, — exception faite pour le vaccin de Boquet, Calmette, Guérin, pour celui de Friedmann (bac. tuberc. de la tortue) et pour le vaccin de Möller (bac. tuberc. de l'Anfisbena (anguis-anulata-Orbellino), (ces derniers non pathogènes pour l'homme) — l'on emploie des tuberculines préparées avec des exo-et des endotoxines tuberculeuses, ainsi que des vaccins préparés moyennant des bactères tuberculeux Kochî, type humain et des bovidés, tués par la chaleur ou par des agents chimiques (vaccin Maragliano, vaccin Japonais avec de la trypaflavine, ou de la saponine, ou bien avec de l'éther). M. Maffucci, ainsi que M. A. Ascoli l'a remarqué bien justement (Minerva Medica, n. 12, 1929) fut le premier, en Italie, qui, à propos de la tuberculose, signala la nécessité de vacciner moyennant des bactères vivants et non pas des toxiques tuberculeux, en rappelant instamment la conception de Jenner et en répétant l'affirmation de Pasteur, suivant laquelle la vaccination contre les maladies infectieuses doit être entendue dans le vrai sens pratique du mot, c'est-à-dire: provoquer des infections modiques au moyen de virus fort atténués, ayant recours à l'immunisation active.

Mais si pour la tuberculose ce critérium est, au point de vue scientifique, vrai et juste, au point de vue pratique il est absolument décevant, car, pour le moment, on ne connait pas la sensibilité et la réceptivité que chaque individu a, ou peut avoir, vis-à-vis de la tubercoluse. Ce critérium a pu être acquis pour la variole, par une pratique qui dure depuis nombre d'années et qui a été faite sur des millions de sujets vaccinés et revaccinés, car, desormais, c'est depuis presqu'un siècle que les individus appartenant aux Nations civiles se soummettent à la vaccination et à la revaccination *moyennant le virus de la pustule vaccinale*, sans aucun dommage.

Heureusement nous avons à notre disposition un animal — le cobaye — qui, pour l'étude expérimentale de la tuberculose humaine, représente un précieux instrument biologique très sensible. En réalité l'étude du virus tuberculeux inoculé à cet animal nous a montré des faits

extrèmement importants et nous sommes parvenus même à constater que le cobaye met en évidence et rafforce le virus tuberculeux en des liquides ou en des tissus dans lesquels, malgré les moyens optiques les plus modernes et les moyens culturaux les plus recherchés, nous ne parvenons à voir rien (abcès froid, produits de dégénération caséeuse milliaire, sang, liquides pleurétiques, du péritoine, de l'hydrocèle essentiel, filtrats provenant de cultures, ou de produits tuberculeux, etc.).

Mais à propos de vaccins préparés moyennant les bactères vivants, il faut se rappeler que le bacille tuberculeux Kochî n'est pas toujours alcool-acido-resistant et qu'il existe des bactères tuberculeux Kochî alcool-résistants rendus saprophytes à la suite de conditions ambiantes prolongées pendant de longues années et enfin il ne faut pas oublier que pas tous les bacilles alcool-acido-résistants sont des bacilles tuberculogènes ni, d'autant moins, des bacilles de la tuberculose humaine ou bovine. Pour la solution de tous ces problèmes biologiques nous avons un grand aide dans les expériences sur le cobaye, et dans l'emploi de l'ancienne méthode de Koch, c'est-à-dire l'inoculation suivant la méthode dite « à poche ».

À partir du 1894 jusqu'au 1920 avec des intervalles plus ou moins longs, et dès le 1920 jusqu'aujourd'hui avec beaucoup d'assiduité, je me suis occupé et je m'occupe encore de la tuberculose expérimentale. Or, j'ai pu constater, peu à peu que plusieurs conceptions de l'École anatomo-pathologique de la R. Université de Naples sur la tuberculose ont été confirmées et, sur la base de mes expériences, je suis à même de résumer ici les conclusions suivantes:

1º Le bacille tuberculeux Kochî représente un élément bacilliforme pathogène, stable, dans l'organisme animal d'un eumycète, à cause de son polymorphisme; des corps qui ressemblent, dans leur développement, à ceux que l'on observe dans les clamydospores des Mucorinées; de la production d'une pigmentation noire; et enfin à cause de la sensibilité que les produits pathologiques du bacille en question montrent vis-à-vis de l'iode et des préparations iodiques.

2º Dans les vieilles cultures on remarque une lysis du bacille tuberculeux Kochî, jusqu'à sa destruction complète (Voir mes communications: Riforma Medica, n. 6, 1929 et Pathologica, n. 430, 15-8-1927).

3º En suivant tout le développement du bacille tuberculeux Kochî *in vitro* on peut observer l'existence de corps spéciaux ressemblants et analogues à ceux des eumycètes.

4º Le bactère tuberculeux Kochî, après quelques années, perd complètement sa virulence, à cause des repiquages successifs, virulence qu'il acquiert nouvellement ensuite, par son passage d'un cobaye à l'au-

tre, ainsi qu'il arrive pour les eumycètes qui sont pathogènes pour les animaux et pour les végétaux. En effet les eumycètes perdent eux aussi, au bout de quelques années, leur virulence *in vitro*, mais ils l'acquièrent nouvellement après le passage répété chez des animaux ou des plates: il s'agit là d'un phénomène presque généralement connu pour les actinomycètes.

Or, à la suite de mes nombreuses expériences, je crois fermement que la vaccin tuberculeux Boquet-Calmette-Guérin est inoffensif et que cette propriété tient non pas au milieu spécial, plus ou moins riche en bile où il pousse, mais à sa vieillesse. Ce caractére est connu désormais depuis plusieurs années, surtout après la publication d'un petit volume de M. Middendorp de l'Université Hollandaise, qui parut à Growing en 1909; cet Auteur niait au bacille tuberculeux Kochî tout pouvoir pathogène.

5° Le cobaye est un animal tellement sensible et réceptif pour le bactère tuberculeux Kochî, surtout pour celui provenant des productions pathologiques de l'homme, qu'on peut le considérer comme un instrument biologique précieux et bienfaisant pour le clinicien et l'anatomo-pathologiste.

6° Entre les deux extrèmes du bacille tuberculeux Kochî, c'est-à-dire entre sa phase virulente et sa lysis, il existe comme élément bacilliforme alcool-acido-résistant, des phases innombrables et différentes de son développement.

7° Quelques unes de ces phases sont représentées par des éléments bacillaires totalement inoffensifs pour le cobaye; d'autres, tout en n'étant pas nuisibles, produisent chez cet animal un état allergique. De ces phases j'ai sélectionné, il y a déjà quatre ans, un élément bacillaire qui, d'après mes expériences, réussit vaccinant et curatif pour le cobaye.

8° Lorsque la phase bacilliforme que j'ai sélectionnée de ces phases longtemps étudiées, est injectée dans le tissu sous-dermique, dans la glande lymphatique, dans la chambre antérieure de l'oeil, dans da cavité péritonéale du cobaye, à commencer de doses moindres pour arriver à de doses élevées, elle ne produit aucun symptome morbide ni aucune lésion anatomo-pathologique.

9° Le cobaye injecté avec de doses croissantes de bouillon culture de cette phase bacilliforme du bacille tuberculeux Kochî que j'ai sélectionnée, resiste à l'infection tuberculeuse expérimentale ou, s'il en est infecté, il guérit.

Je peux donc affirmer, d'après mes expériences répétées et contrôlées, que cette culture réussit vraiment vaccinogène et curative.

Institut de la Clinique Chirurgicale
de la R. Université de Naples.

CARBONE D. et JARACH M. – **Sur le mécanisme de l'immunité acquise active chez les plantes.**

La relation faite par un d'entre nous (Carbone) au Congrès de cette Société qui eut lieu à Paris le mois de juillet 1930, et le thème de laquelle était l'« Immunité chez les plantes », a provoqué des observations et des objections à propos de l'interprétation des faits qui y étaient relatés. Or, parmi ces observations, celle qui fut soulevée par M. Haumann a semblé particulièrement intèressante au relateur qui a promis tout de suite de la soumettre à un contrôle expérimental.

M. Haumann disait, en somme, que les plantes vaccinées sont réfractaires à la réinfection, non pas à cause d'une augmentation de résistance acquise par leurs tissus, mais simplement pour la raison que ces derniers sont imprégnés du liquide cultural (ou de l'extrait) du microrganisme: et ces liquides ou ces extraits, sont, par eux-mêmes, spéficiquement microbicides en vertu de ce phénomène de « vaccination des milieux de culture » que l'on connait bien en microbiologie et à cause duquel un milieu cultural où une espèce microbienne a vecu pour un certain temps, n'est plus adapté au développement du microrganisme même. Par conséquent la « vaccination » de la plante sortirait des phénomènes liés à sa vie, pour rentrer dans une catégorie de faits banals que les microbiologistes connaissent depuis longtemps.

En opposition de cette conception parlait déjà le travail de Zoja (1) parce que dans le filtrat de suc de culture broyé de *Helmintosporium sativum* (c'était la matériel avec lequel ses petites plantes de blé avaient été vaccinées) les conides de cette moisissure germaient normalement.

Mais nous avons voulu affronter la question plus directement; c'est pourquoi nous avons tâché d'établir si une plante vaccinée et ayant supporté l'épreuve de la réinfection peut être attaquée par le microrganisme après avoir été tuée par des moyens l'altérant le moins possible.

Nous avons donc choisi une vaccination d'essai facile à effectuer au laboratoire et que d'autres rechercheurs avait déjà expérimentée en la trouvant facile à obtenir. Dans ce bout nous avons mis en effet la vaccination des haricots contre la *toile*, déjà expérimentée par M. Nobécourt (2) — s'appuyant à son tour sur les expériences de M. Beauverie (3) — et dans la réalisation de laquelle nous avons introduit, avec un résultat satisfaisant, quelques modifications.

---

(1) ZOIA, Atti R. Istituto Botanico della R. Università di Pavia, 1924.

(2) NOBECOURT, *Contribution à l'étude de l'immunité chez les végétaux.* (Barbier, Tunis, 1928).

(3) BEAUVERIE, C. R. de l'Academie des Sciences, 1899 et 1901.

Après nous avoir procuré une culture de *toile* (pour laquelle nous sommes redevables à M. le Prof. Beauverie, que nous remercions ici bien vivement) nous avons commencé, dans une épreuve préliminaire, à en essayer le pouvoir pathogène vis-à-vis de différentes qualités de haricots, en choisissant, après ce procédé, la variété nommée « haricots verts du Larïo » comme la plus susceptible.

Ces haricots ont été faits germer dans l'eau pendant quatre jours et puis ils ont été portés dans du sable: une partie, encore avec de l'eau (*contrôle*), l'autre partie avec du filtrat de *toile*; après neuf jours ils ont été placés dans du liquide nutritif de Sachs. Au bout de dix jours la mortalité a été du 20% dans le lot de *contrôle* et du 3,33% dans le lot *filtrat*. À ce point (5 décembre 1930) on a répété l'infection sur 25 plantes de *contrôle* et sur 25 de *filtrat* qui avaient survecu à la première infection; ensuite on a placé 14 plantes de chaque lot dans un ambient humide, tandis que les autres sont restées dans l'atmosphère plutôt sèche du laboratoire.

Voici la démarche de la mortalité, en total, pour chaque lot:

	10-XII	11-XII	12-XII	15-XII	Total
Contrôle	—	6	2	8	16
Filtrat	—	—	5	5	10

Observations. — Le 12-XII on a préparé des cultures de cinq plantes mortes appartenantes à chacun des deux lots; ces cultures ont donné la *toile* et une microflore banale variée.

L'11-XII on tua, au moyen de la chaleur (30′ à 70°C), une petite plante vivante appartenant à chaque lot, et une moyennant les vapeurs d'éther, substance qui, ensuite, en fut soigneusement éloignée. Le 15 de décembre on tua quatre plantes pour chaque lot, en les plaçant, pendant toute une nuit, entre deux petits blocs d'anhydride carbonique solide (dite *glace sèche*) ayant une température de —45° C. environ.

Aussitôt après la mort, chaque plante fut infectée moyennant la *toile*, après quoi on la fit démeurer dans un ambient humide à 30° C.

La *toile* se développa toujours, soit dans les *contrôles*, soit dans les plantes vaccinées; et chez les plantes tuées moyennant la glace carbonique, les contrôles présentèrent un développement de moisissure moins vigoureux que celui des plantes vaccinées. Ensuite on a fait des coupes des deux petites plantes tuées au moyens de l'éther et puis ensémencées avec la *toile*; ces coupes ont été colorées soit avec le rouge de ruthénium, soit avec la saphranine; et ces dernières ont permis de constater que le mycélium typique de la *toile* non seulement ne s'était

pas développé abondamment sur la surface des deux plantes, mais il avait pénétré, soit dans la petite plante vaccinée, soit dans le contrôle, jusqu'à leur intérieur, où l'on voyait les hyphes passer entre les cellules de la moelle.

Après tout cela, l'objection faite par M. Haumann va donc tomber, du moins pour le cas que nous venons d'avoir étudié, tandis qu'il reste confirmé que l'immunité acquise active des plantes est liée à la vie, de même que l'immunité congénitale.

Maintenant nous nous proposons de répéter et d'étendre l'étude du thème dont il est question, et, pour le moment, nous allons publier ailleurs et avec tous les détails, les recherches que nous avons résumées par cette note.

Section de Microbiologie Agricole de l'Institut Sérothérapique de Milan.

BOLCATO VIRGILIO – **Influence des carbonates de Calcium, de Baryum, de Magnesium et de Sodium sur la fermentation lactique et sur celle acétique.**

Il est connu que les ferments producteurs d'acides exigent qu'on ajoute continuellement, dans leur milieu de fermentation, certains carbonates: ces sels, qui salifient en partie les acides qui se sont produits, permettent aux ferments de continuer leur action qui serait arrêtée, en cas contraire, par le degré d'acidité trop fort du milieu même.

Dans les expériences qui suivent ce sont l'acide acétique et l'acide lactique qui ont été salifiés, par un carbonate. Mais si l'on veut se servir de plusieurs carbonates pour neutraliser différentes fermentations, toutes d'une même ferment, qui se trouvent dans les mêmes conditions d'expérience, peut-on croire que tous ces carbonates manifesteront la même action dans la neutralisation quantitative des deux acides produits par les ferments?

En admettant, par exemple, qu'après la neutralisation partielle avec du carbonate de calcium le pourcentage d'acide acétique par rapport à l'acide lactique, c'est à dire le rapport

$$\frac{\text{ac. acétique}}{\text{ac. lactique}}$$

ait une certaine valeur, celle-ci, se conservera-t-elle la même, si l'on neutralise, dans les mêmes conditions, mais en se servant d'autres carbonates?

Et si ce rapport a pour chaque carbonate une valeur différente, l'activité des ferments aura-t-elle subit une variation?

Les carbonates dont on s'est servi pour ces expériences, c'est à dire ceux de *Ca*, de *Ba*, de *Mg* et de *Na*, donnent réellement, lorsqu'on neutralise partiellement, des valeurs différentes pour le rapport sus-dit. Nous appelleront celui-ci sempliment *R*.

La démonstration expérimentale de ce fait est fournie par les resultats obtenus en pratiquant les expériences comme il suit.

Si l'on met à fermenter une solution de mélasse, aprés un laps de temps de 24 heures elle aura aquis un certain degré d'acidité, qui, pour l'acide lactique, est à peu près du 2,5%. L'acide lactique et l'acide acétiques formés pendant ces 24 heures seront, entr'eux, dans un certain rapport *X*. En prélevant ensuite deux échantillons de cette solution, on y neutralise partiellement l'acidité avec deux carbonates différents jusqu'à avoir une valeur de 1,5% pour ces deux essais; après avoir filtré on détermine la quantité des deux acides et on en fait le rapport. On aura ainsi deux nouvelles valeurs, de *R*, qu'on marquera X_1 et X_2, qui non seulement sont différentes de *X* mais sont aussi différentes entr'elles, ce qui a une grande importance. La raison de ce fait est probablement due à la valeur différente des produits de solubilité des sels qui se forment et qui sont, en ce cas, les lactates et les acétates de *Ca*, de *Ba*, de *Mg*, et de *Na*.

En confrontant entr'elles les valeurs expérimentales qu'on obtient avec les carbonates de *Ba*, de *Mg* et de *Na*, et celles qu'on obtient, au contraire, avec le carbonate de *Ca*, qui est pris comme terme de comparaison, on observe que les valeurs de *R*, pour le *Ba* et le *Mg* sont toujours inférieures à celles du *Ca* et ces dernières, à leur tour, sont inférieures à celle fournies par le *Na*.

Ce fait montre que les carbonates de *Ba*, de *Mg* et de *Ca* neutralisent plus facilement l'acide acétique en l'éliminant ainsi du milieu, tandis que le carbonate de *Na* neutralise plus volontiers l'acide lactique.

Expériences	I	II	III	IV
R après la neutralisation:				
avec $Ca\ CO_3$	80	68	75	63
» $Ba\ CO_3$	64	47	56	52
avec $Ca\ CO_3$	80	90	82	75
» $Mg\ CO_3$	61	75	63	61
avec $Ca\ CO_3$	38	87	65	67
» $Na\ CO_3$	54	105	86	83

Ayant ainsi démontré que l'action de ces carbonates sur la valeur *R* est différente pour chacun d'eux, il m'a semblé être le cas d'étudier quelle action ces sels avaient sur la fermentation et spécialement sur la production quantitative des deux principaux acides.

Il est en effet naturel de penser que, si aprés avoir pratiqué la neutralisation partielle de deux échantillons d'une même fermentation avec deux carbonates différents, l'un de ces échantillons contient une plus grande quantité d'acide acétique libre que l'autre, il est trés probable que les ferments agiront dans cet ambient d'une façon différente que ceux qui se trouvent en présence d'une quantité inférieure d'acide acétique.

Les résultats qui ont été obtenus n'ont pas désappointé mon attente: les expériences, relatées dans cette note, qui furent faites en se servant d'un lacto-bacille isolé du jus de betterave, ont démontré que les différents carbonates ont une influence directe sur la production quantitative des deux acides.

En prenant toujours le carbonate de *Ca* comme terme de comparaison, on remarque que les carbonates qui soustraient une quantité d'acide acétique plus forte en favorisent aussi la production. Tel est le cas pour les carbonates de *Ba* et de *Mg*, tandis que celui de *Na*, qui soustrait plus volontier l'acide lactique, favorise la production de cet acide aux dépens du précédent.

Le milieu dont on s'est servi est formé par une solution de mélasse contenant le 10% de saccharose et le 0.8% d'un mélange de phosphates mono-et di-soudiques.

Pour la préparation des expériences on employait une petite bouteille de Hansen qui contenait les colonies du ferment et servait à faire fermenter deux litres de la solution dont nous avons parlé plus haut: cette solution était précédemment stérilisée.

Lorsque cette solution était en pleine fermentation on l'introduisait dans deux ballons de la capacité d'un litre chacun; dans le premier de ceux-ci on pratiquait la neutralisation partielle des acides libres avec du carbonate de *Ca*, et dans l'autre avec le carbonate dont on voulait examiner l'action. Les déterminations analytiques de l'acide acétique et de l'acide lactique faites au commencement de l'expérience après une période de 24 heures, et répétées après un deuxième intervalle de 24 heures, donnaient, par différence, la quantité des acides qui avait été produite pendant les deux intervalles et le rapport entre ces deux quantités fournissait la valeur de *R* pendant chacune des périodes susdites.

Les résultats des expériences sont en rapport avec la condition que les limites de l'acidité libre et ceux du *pH* entre lesquels les ferments agissent soient maintenus parfaitement égaux, soit dans la fermentation

Expériences	I	II	Ier intervalle I	Ier intervalle II	IIème interv. I	IIème interv. II
R au commencement	63	70	—	—	—	—
R avec Ca CO_3	—	—	37	63	19	50
R » Ba CO_3	—	—	48	77	42	87
R au commencement	53	48	—	—	—	—
R avec Ca CO_3	—	—	44	38	18	37
R » Mg CO_3	—	—	67	58	54	48
R au commencement	50	47	—	—	—	—
R avec Ca CO_3	—	—	32	44	30	30
R » Na_2CO_3	—	—	38	46	25	28

de contrôle, c'est à dire dans celle avec le carbonate de *Ca*, soit dans celle du carbonate que l'on veut étudier. Si cette condition n'est pas maintenue les résultats changent de beaucoup.

Des expériences très récentes et dont on fera prochainement la publication, démontrent, en effet, qu'une acidité plutôt forte de l'ambiant favorise la production de l'acide acétique, tandis qu'une acidité plus basse favorise la production de l'acide lactique.

Dans toutes ces expériences l'intervalle acide de l'action a été maintenu constant, et précisément il était compris entre 1,5%-2,2%, d'acide lactique, tandis que les limites du *pH* étaient de 4,5 à 5.

Les carbonates de *Ba* et de *Mg* démontrent donc une forte prévalence dans la production d'acide acétique. L'augmentation de la production d'acide lactique due au carbonate de *Na* semble être moins accentuée.

Il faut aussi se rappeler, toutefois, que la valeur de *R* diminue spontanément au fur et à mesure que la fermentation avance; comme conséquence l'action toxique, assez faible, des trois sels dont on s'est servi, en diminuant, même d'une façon moindre, la velocité du processus de fermentation, par rapport à celui du carbonate de calcium, on a qu'au moment où l'on fait les déterminations analytiques on obtient pour *R* une valeur plus haute que celle correspondante à l'échantillon de contrôle: ce phenomène est indépendant de l'action du sel qu'on traite.

Ce fait favorise l'action des carbonates de *Ba* et de *Mg* mais s'oppose à celle du carbonate de *Na*.

C'est ici, probablement, la raison pour laquelle la sensibilité de l'action de ce carbonate semble inférieure; on trouvera une explication plus détaillée de ce fait dans la note originale.

Laboratoire de l'Acide Lactique de l'Etablissement des Sucreries Nationales. (Zuccherifici Nazionali) – Pontelagoscuro.

Direttore responsabile: Dr. Prof. A. Zironi.